UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Pré-Concentração Por Extração em Ponto Nuvem Para Determinação de Cádmio em Amostras de Bebidas Por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico

Orientada: Hélen Cristine de Rezende
Orientadora: Prof[a]. Dr[a]. Nívia Maria Melo Coelho

Uberlândia - 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Pré-Concentração Por Extração em Ponto Nuvem Para Determinação de Cádmio em Amostras de Bebidas Por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico

HÉLEN CRISTINE DE REZENDE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof[a]. Dr[a]. Nívia Maria Melo Coelho

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

R467p Rezende, Helen Cristine de, 1986-
Pré-concentração por extração em ponto nuvem para determinação de cádmio em amostras de bebidas por espectrometria de absorção atômica como forno tubular na chama e aerossol térmico [manuscrito] / Helen Cristine de Rezende. - 2010.
63 f. : il.

Orientadora: Nívia Maria Melo Coelho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.
Inclui bibliografia.

1. Espectrometria de absorção atômica - Teses. 2. Cádmio - Teses. I. Coelho, Nívia Maria Melo. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 543.421

Elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da UFU / Setor de Catalogação e Classificação

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Química
Programa de Pós Graduação em Química – MESTRADO
E-mail: cpgquimica@ufu.br - Fone: 3239-4385

ALUNO(A): HÉLEN CRISTINE DE REZENDE
NÚMERO DE MATRÍCULA: 93823
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA

PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA: NÍVEL MESTRADO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:

"Pré-concentração por extração em ponto nuvem para determinação de Cádmio em amostras de bebidas por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico"

ORIENTADOR(A):

PROFª DRA. NÍVIA MARIA MELO COELHO

A Dissertação foi **APROVADA** em apresentação pública realizada no Anfiteatro do Bloco 1E, no Campus Santa Mônica, no dia 12 de fevereiro de 2010, às 15:00 horas, tendo como Banca Examinadora:

NOME:	ASSINATURA:
Profª Dra. Nívia Maria Melo Coelho (IQUFU)	Nívia M. M. Coelho
Profª Dra. Clésia Cristina Nascentes (UFMG)	Clésia Cristina Nascentes
Prof. Dr. Sebastião de Paula Eiras (IQUFU)	

Uberlândia, 12 de fevereiro de 2010.

Porque ainda que a figueira não floresça, nem haja fruto na vide; ainda que decepcione o produto da oliveira, e os campos não produzam mantimento; ainda que as ovelhas da malhada sejam arrebatadas, e nos currais não haja gado;
Todavia eu me alegrarei no SENHOR; exultarei no Deus da minha salvação.
O SENHOR Deus é a minha força, e fará os meus pés como os das cervas, e me fará andar sobre as minhas alturas.
Habacuque 3.17-19

Agradecimentos

À Deus pela vida e força que me motiva nos momentos difíceis!!!!

À minha mãe, Nilma, pelo incentivo, ensinamentos de vida, carinho e amor.

Á minha irmã, Aline, pelo carinho e a toda minha família pelo apoio.

Ao meu namorado, Enéias Aurélio, por todo carinho !!!!!!!!

Á minha orientadora Profª. Dra. Nivia Maria Melo Coelho, pela amizade, incentivo e paciência. Muito obrigada!...

Á professora Profª. Dra. Clésia Cristina Nascentes, da Universidade Federal de Minas Gerais, pela acolhida e orientação, durante a minha estadia em Belo Horizonte, onde este trabalho foi realizado.

Aos amigos do Laboratório de Espectroscopia Aplicada – LEA, Cleide, Vanessa e Ione e do Grupo de Espectrometria e Preparo de Amostras – GEAPA pelo companheirismo e amizade.

Ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia pela oportunidade concedida.

Aos membros da Comissão Examinadora deste trabalho, pelas valiosas críticas e sugestões.

A Capes, Fapemig e CNPq pelo apoio financeiro

A todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram na execução deste trabalho. Muito obrigada!..

Resumo

Pré-Concentração Por Extração em Ponto Nuvem Para Determinação de Cádmio em Amostras de Bebidas Por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico

Este trabalho de pesquisa avaliou um procedimento de extração/pré-concentração por ponto nuvem para determinação de cádmio em amostras de refrigerantes armazenados em embalagens de tereftalato de etileno (PET), utilizando Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS-FF-AAS) como método de detecção. Para o procedimento de pré-concentração por ponto nuvem foi empregado como surfactante Triton X-114, como complexante PAN e cloreto de sódio como eletrólito, para induzir a formação do ponto nuvem sem a necessidade de aquecimento. As variáveis como tempo de complexação, concentração do complexante, do surfactante e do eletrólito foram otimizadas através da realização de planejamentos fatoriais e pela utilização de metodologias de superfície de respostas. Nas determinações por TS-FF-AAS, introduziu-se um volume de amostra de 100 μL no interior de um tubo atomizador de Ni, utilizando água como carregador, a uma vazão de 0,4 mL min^{-1}. A partir das condições otimizadas foram obtidos limite de detecção de 0,0178 μg L^{-1}, limite de quantificação de 0,0595 μg L^{-1}, desvio padrão relativo (RSD) de 4,1% para n=6 e um fator de pré-concentração de 55,5. A exatidão foi comprovada por experimentos de adição e recuperação e o método foi aplicado em amostras de refrigerantes.

Abstract

Preconcentration and Determination of Cadmium in Beverage Samples by Cloud Point Extraction and Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry detection

In this work, it was evaluated extraction/preconcentration cloud point procedure for cadmium determination in soft drinks samples stored in polyethylene terephthalate (PET) packaging and detection by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS -FF-AAS). For the cloud point preconcentration procedure were used Triton X-114 as surfactant, PAN as complexing agent and sodium chloride as electrolyte, to induce the formation of point cloud without heating. The parameters complexation time, Triton X-114, PAN and sodium chloride concentrations were optimized using factorial designs and surface response methodologies. For TS-FF-AAS, a volume of 100 μL was introduced into the hot Ni tube using water carrier at a flow rate of 0.4 mL min^{-1}. Under the optimized conditions were obtained detection limit of 0.0178 μg L^{-1}, quantification limit of 0.0595 μg L^{-1}, relative standard deviation (RSD) of 4.1% for n = 6 and an enhancement factor of 55.5. The accuracy was checked by addiction-recovery experiments and the method was applied to samples of soft drinks.

Sumário

Sumário ix

Lista de Abreviaturas xi

Lista de Tabelas xii

Lista de Figuras xiii

1-Introdução 1

2- Revisão Bibliográfica 5

2.1- Extração em Ponto Nuvem 5

2.2- Espectroscopia de Absorção Atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS) 10

2.3- Cádmio 18

3-Objetivos 20

4- Parte Experimental 21

4.1- Equipamentos e Acessórios 21

4.1.1 - Sistema TS-FF-AAS 22

4.2- Reagentes e Soluções 24

4.3- Extração por ponto nuvem 25

4.4- Otimização do Método 27

4.5- Figuras de Mérito 29

4.6- Amostras 29

5- Resultados e Discussões 30

5.1- Efeito do pH na complexação do cádmio 30

5.2- Otimização do procedimento ponto nuvem 31

5.3- Figuras de Mérito 37

5.4- Exatidão e Aplicação do método..... 39

6- Conclusões 42

7- Referências Bibliográficas 44

Lista de Abreviaturas

FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica por Chama
PAN	1-(2-piridilazo)2-naftol
RSD	Desvio Padrão Relativo
PET	Tereftalato de Etileno
ETAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica
ICP-MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente
TS-FF-AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico
GF-AAS	Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite
CMC	Concentração Micelar Crítica
CPE	Extração por Ponto Nuvem
rpm	Rotações por Minuto

Lista de Tabelas

Tabela 1 Classificação de surfactantes em diferentes classes 5

Tabela 2 Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de cádmio 21

Tabela 3 Parâmetros instrumentais utilizados para determinação de Cd(II) por TS-FF-AAS 26

Tabela 4 Matriz do Planejamento Fatorial Fracionário 2^{4-1}..... 27

Tabela 5 Matriz do Planejamento Composto Central 2^{3}..... 28

Tabela 6 Resultados obtidos para planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} ... 32

Tabela 7 Valores para as condições otimizadas pelo método proposto 37

Tabela 8 Figuras de mérito do método otimizado de pré-concentração de Cd(II) por ponto nuvem e detecção por TS-FF-AAS 39

Tabela 9 Resultados dos testes de exatidão da metodologia de determinação de Cd(II) empregando amostras fortificadas..... 40

Lista de Figuras

Figura 1 Material de embalagem utilizada em refrigerantes – % média entre os anos de 2003 – 2007..... 2

Figura 2 Representação esquemática da formação das micelas 6

Figura 3 Esquema do processo de formação do ponto nuvem e separação das fases..... 7

Figura 4 Configuração do tubo utilizado no sistema TS-FF-AAS..... 22

Figura 5 Representação esquemática do sistema TS-FF-AAS 23

Figura 6 Fotografia do tubo de Ni sobre a chama e o capilar cerâmico para o sistema em funcionamento 24

Figura 7 Gráfico de Pareto gerado no planejamento fatorial fracionário (2^{4-1}) 33

Figura 8 Superfície de resposta obtida no planejamento composto central, para PAN x Triton X-114 x Área integrada, mantendo NaCl em 2,3 %m/v..... 35

Figura 9 Superfície de resposta obtida no planejamento composto central, para PAN x NaCl x Área integrada, mantendo Triton X-114 em 0,03 %m/v..... 36

Figura 10 Superfície de resposta obtida no planejamento composto central, para Triton X-114 x NaCl x Área integrada, mantendo PAN em 0,13 mmol L^{-1}..... 36

Figura 11 Curvas de calibração de Cd (a) pré-concentrada por ponto nuvem (b) sem pré-concentração..... 38

Figura 12 Curva de calibração de Cd sem pré-concentração lida por FAAS..... 38

1. INTRODUÇÃO

O consumo de bebidas não alcoólicas no Brasil cresce em média 3,2% ao ano, e atingiu em 2008 um volume de venda em torno de 54 bilhões de litros [1]. O consumo de bebidas não alcoólicas é o principal fator responsável pelo crescimento do consumo de bebidas no país, onde a escolha da qualidade do produto a ser ingeridos, exerce papel cada vez maior na escolha do consumidor. Entre as bebidas não alcoólicas estão incluídas águas engarrafadas, águas em galão, águas saborizadas, refrigerantes, sucos e néctares, refresco, água de coco, sucos concentrados, sucos em pó, chás gelados, bebidas à base de soja, energéticos e isotônicos.

A indústria de bebidas não alcoólicas é dominada pelos refrigerantes, bebida adoçada, sem álcool e contendo dióxido de carbono, que representa 25% do total do consumo de bebidas comerciais no país, estando à frente da cerveja, responsável por 18% do mercado [1].

O consumo de refrigerantes no país mudou drasticamente a partir do ano de 1995 com a introdução das embalagens PET - Tereftalato de Etileno - para armazenamento das bebidas, principalmente porque esse foi o lançamento chave para o crescimento de pequenas marcas – as tubaínas – empresas fabricantes de refrigerantes regionais, que detêm 32% do mercado de refrigerantes do país [2].

O PET é responsável por 80% do mercado de embalagens para refrigerantes (Figura 1), ele é um polímero termoplástico de alta resistência mecânica e química, proporciona uma excelente barreira para gases e odores. Devido às características já citadas e o peso muito menor que das embalagens tradicionais, o PET mostrou ser o recipiente ideal para a indústria de bebidas em todo o mundo, pois reduz os custos de

transporte e produção. Por tudo isso, oferece ao consumidor um produto substancialmente mais barato.

A maioria das embalagens poliméricas, por exemplo, Polietileno de Alta Densidade (PEAD), Cloreto de Polivinil (PVC), Polietileno de Baixa Densidade (PEBD), Polipropileno (PP) e Poliestireno (PS) e incluindo o Tereftalato de Etileno (PET), necessitam de aditivos como, lubrificantes, estabilizantes e antioxidantes. Eles são utilizados durante o processo de produção dos polímeros. Pesquisas recentes têm mostrado que há um grande potencial de migração desses aditivos das embalagens para o produto armazenado, causando uma grande preocupação uma vez que, alguns desses aditivos são extremamente tóxicos.

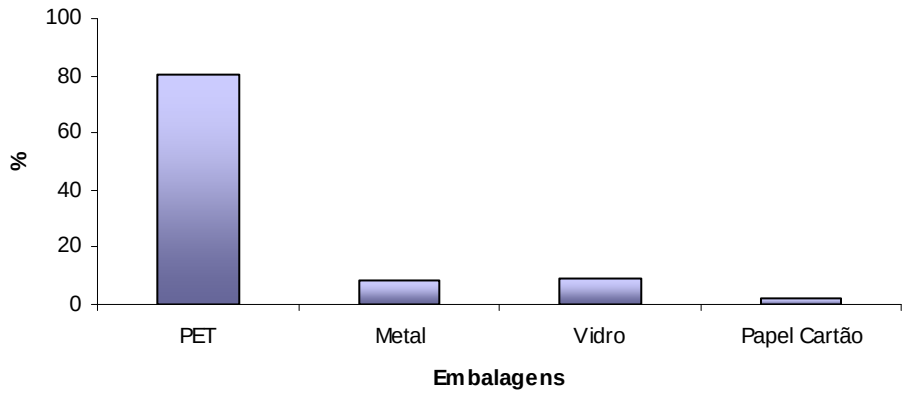


Figura 1 – Material de embalagem utilizada em refrigerantes – % média entre os anos de 2003 – 2007. [1]

Entre esses aditivos tem-se o sal inorgânico, estereato de cádmio, que é empregado como estabilizante para algumas embalagens plásticas. Martinis et. al. [3] investigaram a concentração de cádmio presente em diferentes materiais plásticos utilizados para armazenamento de alimentos. Foram analisados as embalagens de PEAD, PVC, PEDB, PP, PS e PET, que apresentaram concentrações de cádmio na

faixa de 0,55 – 25,0 mg kg^{-1}. A Comunidade Européia regula o conteúdo de cádmio nessas embalagens em um limite máximo de 100 mg kg^{-1} [4]. Apesar da baixa concentração encontrada é necessária a investigação da concentração deste metal em alimentos e bebidas armazenados em embalagens plásticas, uma vez que o cádmio é bioacumulativo e extremamente tóxico para o ser humano, podendo causar danos em diversos órgãos, tais como, rins, fígado e pulmões [5-8].

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) tem sido uma das técnicas mais empregadas para quantificação de metais, por apresentar boa seletividade, alta freqüência analítica, relativa simplicidade e baixo custo de operação em relação às outras técnicas espectroscópicas (ETAAS, ICP-MS, ICP-OES e GFAAS) [9-11]. Entretanto, a FAAS apresenta baixa sensibilidade quanto se deseja quantificar espécies analíticas em concentrações menores que mg L^{-1}, isso ocorre principalmente pela baixa eficiência no processo de nebulização da amostra, em que apenas 5-10% do volume da amostra atinge a chama e também pelo baixo tempo de residência da amostra na chama [11-13].

Diante destas limitações algumas estratégias têm sido criadas para melhorar a sensibilidade da FAAS. Dentre estas alternativas se destaca o trabalho realizado por e Gáspar e Berndt [14], e Davies e Berndt [15] com desenvolvimento da técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS-FF-AAS), que possibilita um aumento significativo da sensibilidade, devido ao aumento do tempo de residência da nuvem atômica no caminho óptico e da eficiência na introdução da amostra, que é realizada por um capilar posicionado na extremidade de um tubo aquecido na chama de um espectrofotômetro de absorção atômica [16-19]. Adicionalmente, também pode-se ter um aumento da sensibilidade com emprego de técnicas de pré-concentração, que visam a transferência do analito de

interesse de uma fase de grande volume para outra de pequeno volume. Uma das técnicas de pré-concentração/extração que tem sido amplamente aplicada para determinação de metais traço em diferentes matrizes é extração por ponto nuvem, por ser procedimento relativamente simples, de baixo custo, com altos fatores de pré-concentração [20-24].

Neste trabalho foi realizada otimização de um procedimento de extração e pré-concentração por ponto nuvem para determinação de cádmio por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama. Após a metodologia otimizada, a mesma foi aplicada para a pré-concentração de cádmio em amostras de refrigerantes armazenados em embalagens PET.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Extração por Ponto Nuvem

A extração por ponto nuvem, do inglês “cloud point extraction” (CPE), se baseia na propriedade que alguns surfactantes possuem de formar micelas, em soluções aquosas ou orgânicas, a partir de uma determinada concentração [25]. Ela surgiu como uma alternativa a extração líquido-líquido convencional, por apresentar altos fatores de pré-concentração, requerer quantidades menores de amostras, ser um procedimento relativamente simples quando comparado a extração convencional, utilizar reagentes com menor toxicidade eliminando o uso de grandes quantidades de solventes orgânicos e por tornar o procedimento mais seguro e econômico [26].

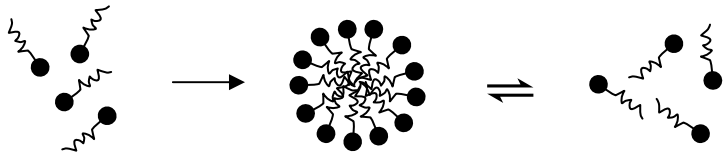
Os surfactantes ou tensoativos, são moléculas orgânicas que têm distintas regiões hidrofílica e hidrofóbica, possuem estrutura do tipo R-X, onde R é uma longa cadeia de hidrocarbonetos contendo de 8 a 18 átomos de carbono e X é um grupo polar ou iônico. Eles são classificados em relação à natureza do grupo hidrofílico, em não-iônicos, catiônicos, aniônicos, anfóteros [27]. A tabela 1 apresenta alguns exemplos de surfactantes e o grupo ao qual pertencem.

Tabela 1 - Classificação de surfactantes em diferentes classes

Classificação	Surfactante
Não-iônicos	Octilfenoxipolietoxietanol (Triton X-114)
Catiônicos	Brometo de cetiltrimetil amônio (CTAB)
Aniônicos	Dodecil Sulfato de Sódio (SDS)
Anfóteros	4-(dodecildimetil amônio) butirato (DAB)

A presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos nos surfactantes lhes proporciona a capacidade de dissolução tanto em água como em outros solventes. Além disso, eles têm a capacidade de se associarem para formação de agregados, como micelas, vesículas, microemulsões, monocamadas e bicamadas. A formação desses agregados depende da natureza e geometria do surfactante e da estrutura do solvente. Eles podem ser formados por forças eletrostáticas entre as moléculas, forças de solvatação, forças hidrofóbicas e de tensão superficial [28].

Dentre estes agregados moleculares as micelas têm sido amplamente estudadas e investigadas, elas apresentam estruturas supramoleculares de dimensões coloidais, formadas em soluções aquosas pela agregação espontânea de surfactantes a partir de uma concentração específica, conhecida como concentração micelar crítica (CMC). A CMC de um surfactante depende da estrutura molecular deste e das condições experimentais, como força iônica do meio, presença de contra-íons, temperatura, entre outras. Abaixo da CMC, o surfactante se apresenta na forma de monômeros, e quando a CMC é atingida a formação das micelas é favorecida, como pode ser observado pela Figura 2. As micelas não são estruturas estáticas, mas um equilíbrio dinâmico entre micelas e monômeros mantém aproximadamente constante a concentração depois de atingida a CMC. Elas são termodinamicamente estáveis e facilmente reprodutíveis, mas podem ser destruídas pela diluição em água, quando a concentração atingida estiver abaixo da CMC [25].



Abaixo da CMC (monômeros) — Acima da CMC (micelas e monômeros em equilíbrio dinâmico)

Figura 2 – Representação esquemática da formação das micelas

As micelas têm sido amplamente empregadas, pois são capazes de dissolver e solubilizar espécies químicas, que podem estar presentes em diferentes polaridades e tamanhos. Essa solubilização depende do surfactante empregado e da espécie de interesse, que ocorre por interações eletrostáticas e/ou hidrofóbicas [25,27]. Devido a essa propriedade as micelas têm sido aplicadas para o desenvolvimento de métodos de extração/pré-concentração de espécies orgânicas e inorgânicas através do fenômeno do ponto nuvem.

O fenômeno do ponto nuvem ocorre quando uma solução de um surfactante não-iônico ou anfótero acima da CMC torna-se turva quando aquecida a uma temperatura apropriada, conhecida como "ponto nuvem". Acima desta temperatura a solução se separa em duas fases isotrópicas, uma rica em surfactante e de pequeno volume, denominada fase rica, e a outra fase contendo uma concentração de surfactante próxima a CMC, denominada fase pobre ou fase aquosa (Figura 3) [10]. A temperatura na qual ocorre a separação de fases depende da estrutura e da concentração do surfactante, podendo ser alterada por variações de pressão e pela presença de eletrólitos [29].

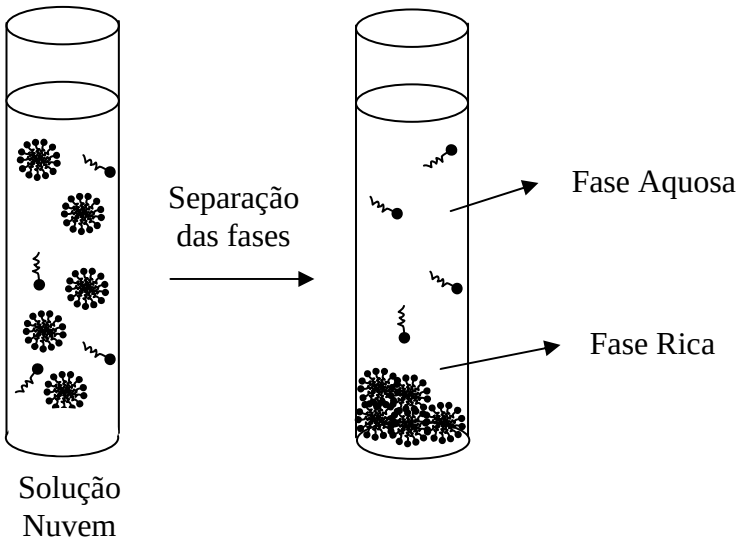


Figura 3 - Esquema do processo de formação do ponto nuvem e separação das fases

Esse fenômeno é observado normalmente em surfactantes que possuem grupos polioxietilenos, e pode ser atribuído aos segmentos óxido etil da micela que se repelem a baixas temperaturas quando estão hidratados, e se atraem a altas temperaturas devido à desidratação das micelas [30].

Desta forma, o emprego do ponto nuvem tem sido utilizado para desenvolvimento de métodos para separação/pré-concentração ou purificação de diversas espécies químicas. Uma das principais aplicações da CPE tem sido para extração/pré-concentração de íons metálicos, uma vez que possibilita uma melhoria da sensibilidade, pois altos fatores de pré-concentração são obtidos, permitindo a determinação destes em níveis de concentrações muito baixas.

A primeira aplicação do ponto nuvem foi realiza por Watanabe e Tanaka [31], que pré-concentraram Zn(II) usando PAN como complexante e PONPE 7.5 (pilo-oxietileno-nonil-fenil-éter) como surfactante. Desde então, a metodologia de extração/pré-concentração por ponto nuvem tem sido utilizada para diversas aplicações, por ser versátil, compatível com diversos sistemas de detecção e possibilitar o acoplamento a sistemas em fluxo.

Andrade et. al. [18] aplicaram a CPE para determinação de cádmio e chumbo em amostras de tabaco. Como surfactante foi utilizado Triton X-114 e 2-(bromo-2-piridilazo)-5-dietilaminofenol (Br-PADAP) foi empregado como agente complexante. Os elementos foram determinados por TS-FF-AAS e os limites de detecção para Cd(II) e Pb(II) foram de 4,0 e 13 $\mu g\ Kg^{-1}$, respectivamente.

Com o intuito de realizar especiação de cromo Matos et. al. [32] utilizaram extração por ponto nuvem. O procedimento foi baseado na complexação do Cr(III) com PAN, e em seguida foi realizada extração com Triton X-114. A fase rica foi analisada por FAAS e a fase aquosa contendo Cr(VI) foi novamente submetida ao procedimento

de ponto nuvem, com prévia etapa para redução do Cr(IV) a Cr(III), utilizando ácido ascórbico. A concentração de Cr(VI) foi calculada pela diferença entre a concentração de Cr-total e de Cr(III). O método foi aplicado com sucesso para amostras de efluentes de indústria de couro.

Donati et. al. [33] descreveram um método que combina a pré-concentração por ponto nuvem com detecção por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica empregando filamento de tungstênio para determinação de cádmio em urina. A CPE proporcionou baixos limites de detecção, onde níveis normais de cádmio em urina foram detectados, além disso, reduziu efeitos de matriz possibilitando a utilização de um método simples para correção de fundo.

Ghaedi et. al. [34] propuseram método de extração por ponto nuvem para determinação de Cd(II), Pb(II), Pd(II) e Ag(I) em amostras biológicas. A concentração do complexante bis((1H-benzoimidazol-2il)etil) sulfato (BIES), pH e quantidade de surfactante Triton X-114 foram otimizadas. Nas condições otimizadas foram obtidos limites de detecção de 1,4, 2,8, 1,6 e 1,4 mg L^{-1} e fatores de pré-concentração de 48, 39, 32 e 42 para Cd(II), Pb(II), Pd(II) e Ag(I), respectivamente. O método proposto foi aplicado com sucesso para determinação desses íons metálicos em amostras de lixo radiológico, vegetais, sangue e urina.

Para determinação de Cu(II), Zn(II), Cd(II) e Ni(II) em amostras de águas Silva et. al. [35] desenvolveram um método de CPE como etapa anterior a detecção por espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Os íons metálicos reagiram com 4-(2-pyridylazo)-resorcinol (PAR) em pH 5 para formação de quelatos hidrofóbicos e foram separados e pré-concentrados na fase rica do surfactante Triton X-114. Os parâmetros que afetam a eficiência da extração tais como pH da amostra, concentração do complexante, quantidade de tampão,

concentração do surfactante, temperatura, cinética da reação de complexação e tempo de incubação foram otimizados e apresentaram os respectivos valores 5, 0,6 mmol L^{-1}, 0,3 mL, 0,15% (m/v), 50ºC, 40 min e 10 min para pré-concentração de 15 mL de solução. Os limites de detecção obtidos para Cu(II), Zn(II), Cd(II) e Ni(II) foram de 1,2, 1,2, 1,0, e 6,3 μg L^{-1}, respectivamente. A precisão do método foi avaliada através de testes de adição-recuperação.

Liang e Yang [36] com a finalidade de determinar cobre em amostras de alimentos e águas por espectrofotometria UV-VIS empregaram o procedimento de extração por ponto nuvem, utilizando um aminoácido (isoleucina) como complexante e Triton X-100 como surfactante. Alguns fatores incluindo pH da amostra, concentração do agente quelante e surfactante, tempo e temperatura de equilíbrio que afetam na eficiência da extração das espécies analíticas de interesse e subseqüente determinação foram estudados. Em condições otimizadas o método apresentou limite de detecção de 5 μg L^{-1} e fator de enriquecimento de 22. Materiais certificados de farinha de trigo e de arroz foram analisados para avaliar a precisão do método proposto e os resultados foram concordantes com os valores certificados.

2.2 Espectroscopia de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS-FF-AAS)

A espectrometria de absorção atômica (AAS) foi desenvolvida em meados da década de 50 do século XX, baseada na capacidade que átomos gasosos no estado fundamental têm de absorver energia e serem promovidos a sub-níveis mais energéticos, passando a estar em um estado denominado excitado. Esse átomo excitado quando

retorna ao estado fundamental libera a energia absorvida em forma de radiação eletromagnética em um comprimento de onda específico. Desta forma, medindo a intensidade de emissão ou absorção da radiação eletromagnética, em um dado comprimento de onda característico de cada elemento, é possível a determinação da concentração da espécie analítica. Na AAS a energia necessária para a atomização da espécie analítica pode ser obtida por técnicas que utilizam chama, geração de vapor químico ou atomização eletrotérmica [37].

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) é uma das técnicas de absorção atômica mais utilizada, e tem sido aplicada ao longo dos anos para determinação de diversas espécies metálicas presentes numa variedade de amostras, devido a sua seletividade, robustez, rapidez, simplicidade, baixo custo de manutenção e aquisição. Na FAAS, a amostra líquida é aspirada por um nebulizador pneumático e convertida em um aerossol, que é transportado para uma câmara de pré-mistura, onde se mistura ao gás combustível e comburente (acetileno/ar ou óxido nitroso/ar). Neste momento há separação das gotas maiores, que são direcionadas para um dreno, das gotas menores que por fim atingirão a chama, para que ocorra o processo de vaporização e atomização dos elementos. Neste processo, somente cerca de 5 – 10% do volume inicial da amostra são efetivamente transportados para chama e o de tempo de permanência dos átomos no caminho óptico é pequeno, na ordem de milisegundos, isso resulta em uma sensibilidade baixa para técnica, em que geralmente são encontrados limites de detecção na faixa de mg L^{-1} [38].

Diante destas limitações, diversas estratégias têm sido investigadas para melhorar a sensibilidade da FAAS por meio do aumento da eficiência do processo de transporte e nebulização da amostra e também do aumento do tempo de residência dos átomos no caminho analítico. Desta forma, Gáspár e Berndt [14] propuseram uma forma de

introdução da amostra com o uso de um aerossol térmico e um tubo posicionado sobre a chama, criando assim a espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS, do inglês *Thermospray Flame Furnace AAS*).

A TS-FF-AAS consiste em um tubo, geralmente de níquel, colocado sobre a chama de um espectrômetro de absorção atômica com chama convencional, que atua como célula de atomização, a amostra é introduzida como um aerossol térmico diretamente dentro do tubo, através de um capilar conectado ao tubo. Assim que a amostra, propulsionada por uma bomba peristáltica, atinge a ponta do capilar ela é imediatamente vaporizada e o aerossol formado é totalmente introduzido dentro do tubo.

No trabalho proposto por Gáspár e Berndt [14], eles estudaram algumas variáveis que afetam o sistema, tais como vazão do carregador, volume da amostra, composição e diâmetro interno do capilar, composição do tubo atomizador e sua configuração; para determinação de Cd(II), Hg(I), Pb(II), Ti(IV) e Cu(II). Diante do sistema otimizado, foi possível obter aumento significativo nos limites de detecção de 57, 14, 67, 31, 17 vezes para Cd(II), Hg(I), Pb(II), Ti(IV) e Cu(II), respectivamente, quando comparado ao FAAS convencional. Esse aumento na detecção se deve à completa introdução da amostra no tubo atomizador, melhorando a eficiência do processo de nebulização, e também pelo aumento do tempo (200ms) de permanência da nuvem de átomos gerada no interior do tubo no caminho óptico.

Davies e Berndt [15] também otimizaram parâmetros relacionados ao sistema TS-FF-AAS para determinação de 17 elementos. Nesse trabalho foram avaliadas a constituição do tubo atomizador, vazão do carregador, composição do capilar e três diferentes bombas para o transporte das soluções. Sob condições otimizadas foi obtido um aumento no limite de detecção de 3 a 110 vezes para os 17 elementos estudados

quando comparado com FAAS convencional. Um maior limite de detecção foi obtido para os elementos mais voláteis cádmio, chumbo e titânio.

Com intuito de determinar Co(II) em amostras biológicas e de alimentos Donati et al. [39] utilizaram a TS-FF-AAS para detecção, juntamente com a extração/pré-concentração por ponto nuvem. O Co(II) por apresentar alta temperatura de atomização, e consequentemente uma menor sensibilidade, precisa ter seu comportamento termoquímico modificado, através da formação de compostos voláteis de Co(II). Assim um procedimento de extração por ponto nuvem foi otimizado para possibilitar a detecção de Co(II) com uma conseqüente melhora na sensibilidade. Foram realizados estudos de concomitantes como Al (III), Fe (III), Mn (II), Zn (II) e Cu (II), apresentando interferências negativa de 60 vezes para os dois primeiros, que foi minimizada pela extração com HCl 1mol L^{-1}, que extrai mais facilmente o Co(II) que os concomitantes. Após a extração das amostras com HCl, estas foram submetidas a pré-concentração por ponto nuvem. A melhor sensibilidade obtida foi utilizando APDC com agente complexante e Triton X-114 como surfactante. O limite de detecção foi 2,1 μg L^{-1} e a exatidão do método foi avaliada por análise de amostras certificadas de referência (folha de tomate e fígado bovino). O emprego da etapa de derivatização e extração em ponto nuvem, possibilitou um aumento de sensibilidade de aproximadamente 200 vezes na determinação de Co(II) em relação à determinação do mesmo por TS-FF-AAS sem a pré-concentração.

Nascentes et. al. [11] efetuaram a determinação de Cu(II) e Zn(II) em amostras de suco de frutas e leite bovino sem qualquer tratamento prévio da amostra, exceto pela diluição em água ou em uma solução aquosa contendo aminas terciárias solúveis em água. Os limites de detecção para Cu(II) e Zn(II) em solução aquosas foram 2,2 e 0,9 μg L^{-1}, respectivamente, e 3,2 μg L^{-1} para Cu(II) em solução de amina terciária solúvel em

água (CFA-C). A exatidão do método foi checada através de testes de adição-recuperação e também pela análise de materiais de referência os valores obtidos variaram de 97,7 a 105,3% para Cu(II) e Zn(II). Em outro trabalho [17] Cu(II), Mn(II), Pb(II) e Zn(II) foram determinados em amostras de cervejas sem de digestão da amostra. As amostras foram simplesmente desgaseificadas em banho ultrassônico e diluídas com uma solução de HNO_3 0,14 mol L^{-1}. Para determinação dos elementos utilizou-se calibração de adições de padrão, que foi eficiente para corrigir efeitos de matriz observados. Os limites de detecção obtidos foram 2,2; 18; 1,5 e 0,9 μg L^{-1} para Cu(II), Mn(II), Pb(II) e Zn(II), respectivamente. A exatidão foi avaliada por comparação dos resultados aos obtidos empregando-se a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GFAAS).

Ainda em relação à determinação de espécies metálicas sem tratamento prévio das amostras Schiavo et. al. [40] determinaram Cd(II), Cu(II) e Pb(II) em amostras de vinhos e sucos de uva. Foram otimizados os parâmetros do TS-FF-AAS tais como fluxo de transporte da amostra até o tubo atomizador, volume de amostragem e o tempo de medida, foi estudado também o efeito da concentração de etanol no sinal analítico. Os resultados obtidos mostraram que a concentração de etanol exerce grande influência nos processos de volatilização e atomização dos analitos, indicando que um máximo de sensibilidade é obtido quando se utiliza soluções contendo 2% (v/v) de etanol, sendo assim as amostras foram diluídas 1:6 v/v para que essa concentração fosse atingida. Para as amostras de vinhos foram obtidos limite de detecção de 12,9; 1,8 e 5,3 μg L^{-1}, para Cu(II), Cd(II) e Pb(II), respectivamente.

Pereira-Filho et. al. [41], considerando que a atmosfera dentro do tubo atomizador é altamente oxidante, quando se utiliza HNO_3, propuseram o uso da TS-FF-AAS para simultânea digestão e determinação de Cd(II), Cu(II) e Pb(II) em amostras biológicas

introduzidas diretas na forma de suspensões. As suspensões foram preparadas em HNO_3 e Triton X-100 e posteriormente foram levadas ao banho ultrasônico para serem estabilizadas. Foi investigada a influência da concentração de HNO_3 e da presença de H_2O_2 e Triton X-100 no preparo das suspensões. Entre as concentrações de HNO_3 estudadas não houve mudança significativa no sinal analítico, entretanto para concentrações maiores os desvios relativos foram maiores, isso pode ser atribuído a interferências espectrais do sinal de fundo causado por uma ineficiente correção de fundo para bandas de NO e NO_2, isso por que altas concentrações deste ácido resultam em grandes quantidades de óxidos nitrosos, sendo assim foi escolhida uma solução de 0,3 mol L^{-1} para reagente oxidante. Triton X-110 foi utilizado para evitar a sedimentação das partículas e o entupimento do capilar cerâmico. Como reagente oxidante adicional foi avaliado o uso de H_2O_2, não apresentando nenhum efeito significativo nos experimentos realizados. As espécies analíticas de interesse foram determinadas em amostras referência certificadas de espinafre, folhas de tomateiro, fígado bovino, rim suíno e folhas de cítricos, os resultados foram concordantes em um nível de 95% de confiança pela aplicação do teste-t. Os limites de detecção calculados para Cd(II), Cu(II) e Pb(II) foram 0,5, 4,3 e 3,5 μg g^{-1} respectivamente.

Rosini et. al. [12] avaliaram o comportamento de selênio em TS-FF-AAS. As variáveis, composição da chama, tipo de carregador, altura do queimador, volume de amostra e vazão do carregador, foram estudadas utilizando um planejamento fatorial 2^3. As amostras biológicas foram digeridas com o emprego da radiação microondas. Após a otimização do sistema, utilizando chama oxidante, água como carregador, altura do queimador de 1,5 cm acima da chama, 600 μL de amostra e uma vazão de 0,4 mL min^{-1} o método foi validado e apresentou limite de detecção de 8,7 g L^{-1} (95 vezes menor do que o obtido por FAAS). A aplicabilidade do método foi avaliada pela análise de dois

materiais de referência certificados (rim suíno e mariscos). Houve boa concordância entre as concentrações de Se experimentalmente determinadas e as concentrações certificadas a 95% de confiança.

Brancalion e Arruda [42] determinaram Cd por TS-FF-AAS em amostras de plantas medicinais, após digestão assistida por radiação microondas em minifrascos de polipropileno. Parâmetros como massa da amostra, concentração dos reagentes oxidantes, tempo das microondas, energia, entre outros foram estudados. Para otimização foram realizadas medidas de carbono residual e cádmio em todos os experimentos. O limite de detecção calculado foi de 0,9 $\mu g\ L^{-1}$, e a exatidão do método foi confirmada com a determinação de Cd(II) em amostras de referência certificadas de centeio e fígado bovino. Houve concordância entre os valores certificados e os determinados pelo método proposto, em nível de 95% de confiança.

Com intenção de melhorar a sensibilidade da TS-FF-AAS, Pereira et. al. [16] propuseram um acoplamento entre um sistema de pré-concentração em linha e a TS-FF-AAS para a determinação de Cd(II) e Pb(II) em águas. As espécies analíticas de interesse foram complexadas com pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC), e os quelatos foram posteriormente adsorvidos (pré-concentrados) em coluna preenchida com uma mistura de C_{60} e C_{70}. A metodologia promoveu um aumento de sensibilidade em relação à FAAS de 675 e 200 vezes, para Cd(II) e Pb(II), respectivamente. Para avaliar a exatidão do método, foram utilizadas amostras fortificadas de águas mineral e de torneira e água contendo cádmio naturalmente, adicionalmente os resultados obtidos foram comparados com os resultados gerados aplicando-se a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS). Foram utilizados também materiais de referência certificados de centeio e rim suíno, para exatidão, e os resultados não apresentaram diferença entre os valores determinados e certificados.

Ainda em relação a melhoria da sensibilidade da TS-FF-AAS, Tarley e Arruda [9] propuseram um acoplamento entre um sistema de pré-concentração em linha e a TS-FF-AAS para a determinação de Cd(II) em amostras de água e material de referência certificado fisiológico. O cádmio foi pré-concentrado em uma espuma poliuretana contendo DDTP adsorvido. A eluição foi efetuada usando uma solução 80% (v/v) de etanol. As variáveis químicas e de fluxo que afetam a pré-concentração do Cd(II) foram avaliadas. Sob condições ótimas o método apresentou limite de detecção de 0,12 μg L^{-1} e um fator de enriquecimento em relação ao TS-FF-AAS de 5 vezes. A exatidão do método foi confirmada pela análise de amostras de águas fortificadas, material certificado e também utilizando a técnica (ETAAS) como referência. Para verificar a seletividade do método, foi realizado um estudo para avaliar a extração do cádmio pelo DDTP na presença de íons metálicos (Cu(II), Co(II), Fe(III), Mn(II), Ni(II), Pb(II) e Zn(II)). Os resultados mostraram recuperações para Cd entre 70,1-106,8%, isso indica a seletividade do método na presença de vários metais de transição. Foram observadas interferências quando concentrações elevadas foram adicionadas, por exemplo, Cu(II) (5 mg L^{-1}) e Fe(III) (100 mg L^{-1}).

Em outro trabalho, utilizando o mesmo sistema apresentado acima, Tarley et al. [19] determinaram Cu(II) em amostras de água. As variáveis que afetam a pré-concentração do Cu(II) foram avaliadas utilizando um planejamento fatorial 2^4 e um Doehlert, foram estudados pH da amostra, concentração do complexante DDTP, presença de uma bobina e fluxo de pré-concentração. Os resultados obtidos indicaram que somente o pH, a concentração do complexante e a interação entre o pH e a concentração do complexante podem exercer influência no sistema em um nível de confiança de 95%. Soluções de Cu(II) foram pré-concentradas na presença de vários íons metálicos que também reagem com DDTP, para checar efeitos de concomitantes no

método. Os resultados confirmaram a seletividade do método de acordo com os resultados de recuperação (102 e 110%). O sistema apresentou um fator de pré-concentração 65 vezes maior quando comparado somente ao TS-FF-AAS sem pré-concentração e um limite de detecção de 0,22 μg L^{-1} [19]. Chumbo também foi determinado utilizando esta metodologia e bons resultados foram obtidos para determinação do elemento em amostras de águas e vegetais, com limite de detecção de 1,5 μg L^{-1} [43].

2.3 Cádmio

O cádmio existe na crosta terrestre em baixas concentrações e está associado principalmente a sulfetos em minérios de Zn(II), Pb(II) e Cu(II). A introdução deste metal no meio ambiente vem ocorrendo de forma progressiva a partir de fontes naturais e principalmente antropogênicas, que distribuem o metal na água, ar e solos [44]. É empregado em numerosos materiais, como revestimento à prova de corrosão em ligas metálicas, estabilizadores, manufaturas de PVC, baterias de veículos, revestimentos eletrolíticos de metais, acabamentos de peças, fabricação de pedra-pome e de pastas de limpeza, em pisos, plásticos, vidros e decapagens [45].

É um metal não essencial para a vida humana que apresenta efeitos tóxicos nos organismos vivos, mesmo em baixas concentrações [5]. O contato dos seres humanos com o cádmio pode ocorrer por inalação, por meio de atividades de mineração, por indústrias de fundição de metais não ferrosos na produção de aço e ferro e pela combustão de combustíveis fósseis e também através de via oral, pela ingestão de alimentos contaminados oriundos de solos ou água de irrigação contaminada [46]. Uma grande fonte de Cd(II) são as plantas do tabaco, uma vez que, o Cd(II) absorvido do

solo e da água de irrigação é liberado através da fumaça quando o cigarro é aceso, deixando os fumantes expostos a uma quantidade considerável de Cd(II) [45].

A vida biológica do cádmio é em torno de 10-30 anos. No corpo humano, ele pode se acumular em diversos órgãos, principalmente nos rins e fígado, seguido pelo pulmão e pâncreas [8]. A prolongada ingestão de Cd(II) e sua conseqüente acumulação, pode causar danos aos rins e fígado, distúrbios gastrointestinais, hipertensão, infertilidade, doenças ósseas, destruição do tecido testicular e das células vermelhas do sangue [7, 47]. Algumas enzimas que contém Zn(II) podem ter suas estruturas alteradas, devido à substituição do Zn(II) pelo Cd(II), o que impede a atividade catalítica das mesmas. A proteína metalotioneína, cujo papel é regular o metabolismo do Zn(II), pode complexar quase todo o Cd(II) ingerido pelo homem e o complexo é eliminado através da urina, entretanto se a quantidade de Cd absorvida exceder a capacidade de complexação dessa proteína, o metal se acumula nos órgãos humanos [48].

3. OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma metodologia para determinação de cádmio em refrigerante armazenados em embalagens PET empregando pré-concentração/extração por ponto nuvem. Foram utilizados 1-(2-piridilazo)2-naftol (PAN) para formação do complexo hidrofóbico de cádmio, Octilfenoxipolietoxietanol (Triton X-114) como surfactante e cloreto de sódio para promover a separação das fases. As variáveis que afetam a pré-concentração foram otimizadas utilizando planejamento fatorial e método de superfície de resposta. A quantificação do cádmio foi realizada por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Equipamentos e Acessórios

Todos os experimentos foram realizados em um espectrômetro de absorção atômica com chama Perkin-Elmer AAnalyst 200 (Norwalk, CT, EUA) equipado com lâmpada de deutério para correção do sinal de fundo. Como fonte de radiação utilizou-se lâmpada de descarga sem eletrodo (EDL) de Cádmio Perkin-Elmer (Norwalk, CT, EUA). Os parâmetros instrumentais utilizados seguiram as recomendações do fabricante e são apresentados na Tabela 2.

Uma centrífuga (Nova Técnica, Piracicaba, Brasil) foi usada para o processo de separação de fases. Os valores de pH foram medidos usando um pHmetro Digital (GEHAKA, São Paulo, Brasil) e para desgaseificação das amostras utilizou-se um banho de ultrassom (Neytech, Yucaipa, EUA).

Tabela 2 - Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de Cádmio.

Parâmetro	**Cd**
Comprimento de onda (nm)	228,80
Resolução Espectral (nm)	0,2
Vazão de ar (L min^{-1})	10,0
Vazão de Acetileno (L min^{-1})	2,5

4.1.1 Sistema TS-FF-AAS

O sistema TS-FF-AAS foi montado utilizando como célula de atomização um tubo de níquel com 10 cm de comprimento, 1,0 e 1,2 cm de diâmetro interno e externo, respectivamente. O tubo contêm ainda um orifício central de 2 mm de diâmetro para a introdução da amostra e 6 furos de 2 mm de diâmetro na parte inferior, perpendiculares com o orifício de introdução de amostra, para penetração da chama. A Figura 4 mostra a o tubo atomizador utilizado. O tubo foi colocado sobre um suporte de aço inoxidável adaptado ao queimador do espectrômetro de absorção atômica, que foi posicionado no suporte de forma que o feixe proveniente da lâmpada passasse por seu interior.

Figura 4 – Configuração do tubo utilizado no sistema TS-FF-AAS.

Um injetor comutador de acrílico do tipo circular foi usado para a injeção das amostras, brancos e soluções padrão através de um capilar cerâmico de 10 cm de comprimento, 0,5 mm diâmetro interno e 2,0 mm diâmetro externo (Friatec, Mannhein, Alemanha). A extremidade do capilar, responsável pela geração do aerossol térmico foi introduzida aproximadamente 2,0 mm no interior do tubo atomizador. Na Figura 5 é mostrada a representação esquemática do sistema TS-FF-AAS.

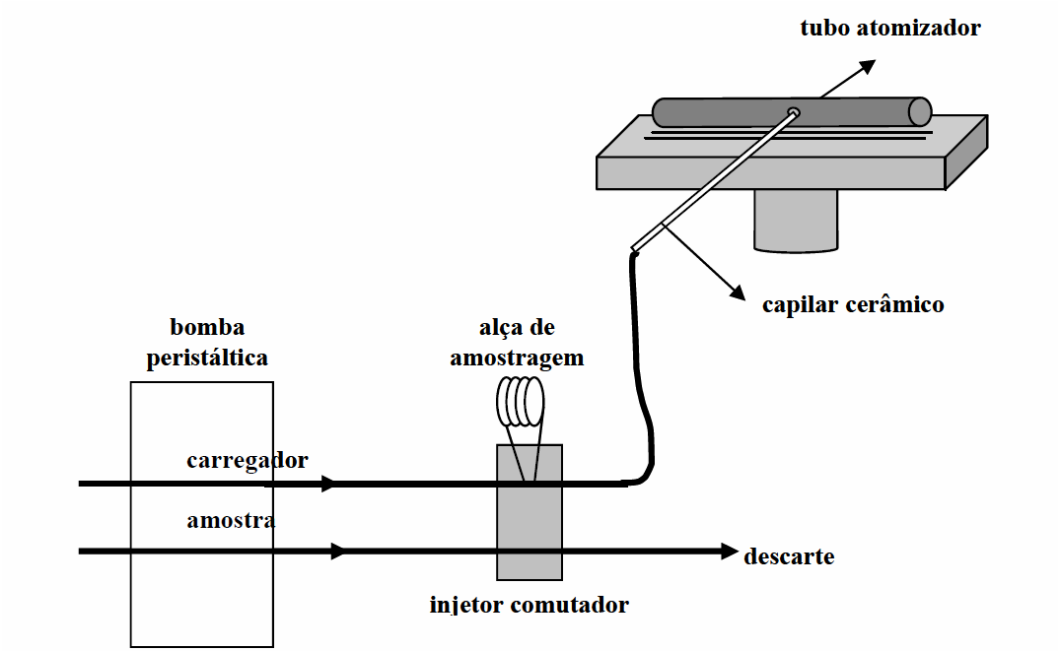


Figura 5 – Representação esquemática do sistema TS-FF-AAS

Para propulsão das amostras e do carregador foi utilizada uma bomba peristáltica Gilson® Minipuls 3 (Villiers Le Bel, França) equipada com 2 canais e tubos de Tygon® de diferentes diâmetros e tubos de PTFE de 0,8 mm de diâmetro interno. É importante ressaltar, que a ignição foi realizada sem a presença do tubo no queimador, pois assim evita-se explosões, pelo aprisionamento de acetileno no interior do tubo. Após a ignição, o tubo é colocado cuidadosamente no suporte com o auxílio de uma garra metálica. Na Figura 6 é apresentado o tubo de Ni sobre a chama e o capilar cerâmico, com o sistema em funcionamento.

Figura 6- Fotografia do tubo de Ni sobre a chama e o capilar cerâmico para o sistema em funcionamento.

4.2 Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas utilizando reagentes de pureza analítica e água desionizada obtida do sistema purificador/deionizador de água Gehaka (São Paulo, Brasil). Os frascos plásticos para armazenamento das soluções e as vidrarias foram descontaminadas em banho de HNO_3 10% v/v por 24 h. Posteriormente, o material foi lavado várias vezes com água deionizada e, em seguida, seco a temperatura ambiente. As soluções referências de cádmio foram preparadas a partir de diluições adequadas de uma solução estoque 1000 mg L^{-1} Carlo Erba (Val de Reuil, França).

A solução tampão de borato em pH 10 foi preparada em um balão volumétrico de 50 mL, a partir de 25 mL de uma solução de borato de sódio (Synth, São Paulo, Brazil) a 0,025 mol L^{-1}, 9,15 mL de uma solução de hidróxido de sódio (Synth) a 0,1 mol L^{-1} e o volume foi completado com água desionizada .

A solução estoque do complexante PAN (Merck, Darmsdadt, Alemanha) foi preparada pela dissolução de quantidade apropriada do reagente em álcool etílico

(Merck). As soluções de trabalho foram preparadas por diluições apropriadas da solução estoque do complexante em Triton X-114 (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) 0,25 % m/v.

Como surfactante foi utilizado soluções Triton X-114 em % m/v, pois apesar de ser líquido ele possui alta viscosidade, dificultando seu preparo por meio de medida de volumes. Cloreto de sódio (Synth) a 1% m/v foi utilizado como eletrólito e para diluição da fase rica foi empregada uma solução de etanol 5,4% v/v em ácido nítrico (Merck) 0,1 mol L^{-1}.

4.3 Extração por ponto nuvem

Os experimentos de extração por ponto nuvem foram realizados em tubos de centrífuga de 15 mL, onde o volume final após a adição de todos os reagentes foi de 10,0 mL. Nestes tubos, fez-se a adição da solução referência ou amostra, solução tampão para ajuste de pH e solução do complexante. Os tubos foram agitados e após o tempo de complexação, foram adicionadas soluções do surfactante e do eletrólito e fez-se nova agitação. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 2800 rpm (rotações por minuto) por 15 minutos, para ocorrer a separação das fases e levados a um congelador por 15 minutos para aumentar viscosidade da fase rica e facilitar retirada da fase pobre, pela inversão dos tubos. A fase aquosa foi retirada e, para diminuir a viscosidade da fase rica e possibilitar a sua introdução no sistema TS-FF-AAS, a mesma foi diluída com 200 μL de solução etanol/ácido nítrico.

No sistema TS-FF-AAS foi utilizado água como carregador, uma vez que estudos preliminares, utilizando ar, necessitaram de um tempo grande para limpeza da linha,

necessitando de sucessivas injeções de água entre as leituras para que o sinal voltasse à linha base. Quando se utilizou água como carregador o tempo de limpeza do sistema foi menor, garantindo uma boa freqüência analítica, além disso, a queda do sinal analítico causada pela pequena diluição não foi significativa, o que não comprometeu a sensibilidade. A aquisição do sinal analítico foi feita em altura de pico, a partir de 100 μL de amostra medidos durante 30s e foi representado como área integrada. Esse modo de representação é menos suscetível a variações nas condições de atomização sendo indicado em sistema que apresentam medidas de sinais transientes como é o caso do TS-FF-AAS. Os parâmetros instrumentais utilizados para determinação do cádmio por TS-FF-AAS estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3- Parâmetros instrumentais utilizados para determinação de Cd(II) por TS-FF-AAS.

Parâmetros	**Valores Utilizados**
Vazão do carregador (mL min^{-1})	0,4
Volume da amostra (μL)	100
Tempo de espera (s)	8
Tempo de medida (s)	30
Altura do tubo (cm)	0,3
Carregador	Água
Modo de aquisição de sinal	Altura de pico

4.4 Otimização do Método

As variáveis que influenciam na pré-concentração do cádmio por ponto nuvem como concentração do complexante (PAN), concentração do surfactante (Triton X-114), tempo de complexação e concentração do eletrólito (NaCl) foram avaliadas primeiramente através de um planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} com replicata, para verificar o nível de influência de cada variável na pré-concentração. O procedimento usado foi o mesmo apresentado no item 4.3, utilizando uma solução de 10 μg L^{-1} de cádmio. A Tabela 4 apresenta a matriz do planejamento fatorial com níveis estudados para cada variável.

Tabela 4- Matriz do Planejamento Fatorial Fracionário 2^{4-1}.

Experimento	PAN (mmol L^{-1})	Triton X-114 % (m/v)	NaCl % (m/v)	Tempo (min)
1	0,005 (-1)	0,02 (-1)	0,5 (-1)	10 (-1)
2	0,1 (+1)	0,02 (-1)	0,5 (-1)	20 (+1)
3	0,005 (-1)	0,4 (+1)	0,5 (-1)	20 (+1)
4	0,1 (+1)	0,4 (+1)	0,5 (-1)	10 (-1)
5	0,005 (-1)	0,02 (-1)	5,0 (+1)	20 (+1)
6	0,1 (+1)	0,02 (-1)	5,0 (+1)	10 (-1)
7	0,005 (-1)	0,4 (+1)	5,0 (+1)	10 (-1)
8	0,1 (+1)	0,4 (+1)	5,0 (+1)	20 (+1)

Após a realização dos experimentos do planejamento fatorial fracionário, foram avaliados os efeitos dos fatores e das interações entre os mesmos sobre o resultado, e para tal foi utilizado programa Statistica 6.0. Diante dos resultados encontrados, para obtenção da condição ótima de experimentação um planejamento composto central

(CCD) para três variáveis foi realizado, como metodologia de análise de superfície de resposta. A Tabela 5 apresenta a matriz do planejamento composto central com níveis estudados para cada variável.

Tabela 5 - Matriz do Planejamento Composto Central 2^3.

Experimento	PAN (mmol L^{-1})	Triton X-114 % (m/v)	NaCl % (m/v)
1	0,04 (-1)	0,02 (-1)	1,5 (-1)
2	0,04 (-1)	0,02 (-1)	4,5 (+1)
3	0,04 (-1)	0,06 (+1)	1,5 (-1)
4	0,04 (-1)	0,06 (+1)	4,5 (+1)
5	0,1 (+1)	0,02 (-1)	1,5 (-1)
6	0,1 (+1)	0,02 (-1)	4,5 (+1)
7	0,1 (+1)	0,06 (+1)	1,5 (-1)
8	0,1 (+1)	0,06 (+1)	4,5 (+1)
9	0,019 (-1,68)	0,04 (0)	3,0 (0)
10	0,12 (+1,68)	0,04 (0)	3,0 (0)
11	0,07 (0)	0,006 (-1,68)	3,0 (0)
12	0,07 (0)	0,07 (+1,68)	3,0 (0)
13	0,07 (0)	0,04 (0)	0,48 (-1,68)
14	0,07 (0)	0,04 (0)	5,52(+1,68)
15	0,07 (0)	0,04 (0)	3,0 (0)
16	0,07 (0)	0,04 (0)	3,0 (0)
17	0,07 (0)	0,04 (0)	3,0 (0)
18	0,07 (0)	0,04 (0)	3,0 (0)
19	0,07 (0)	0,04 (0)	3,0 (0)
20	0,07 (0)	0,04 (0)	3,0 (0)

4.5 Figuras de Mérito

Definidas as melhores condições para as variáveis que afetam a extração/pré-concentração de cádmio por ponto nuvem, foi estabelecida algumas características analíticas para o método proposto como, precisão, limites de detecção e quantificação, fator de pré-concentração, exatidão e faixa de trabalho. A precisão foi representada na forma de desvio padrão relativo (DPR, %). Os limites de detecção (3 vezes o valor do desvio padrão dos brancos dividido pelo coeficiente angular da equação linear da curva de calibração) e quantificação (10 vezes o valor do desvio-padrão dos brancos dividido pelo coeficiente angular da equação linear da curva de calibração) foram calculados a partir de 15 medidas da solução do branco analítico pré-concentrado. O fator de pré-concentração foi estimado pela razão entre os coeficientes angulares das curvas com e sem pré-concentração, sendo esta última construída pela injeção de soluções de cádmio no sistema TS-FF-AAS sem etapa de pré-concentração. A exatidão do método foi avaliada por meio de testes de adição e recuperação realizados em dois níveis de fortificação.

4.6 Amostras

Todas as amostras de refrigerantes utilizadas neste trabalho foram obtidas no comércio local. Elas foram submetidas à desgaseificação através de um ultrassom e ajuste de pH com hidróxido de sódio. Em seguida o procedimento de ponto nuvem foi aplicado e a TS-FF-AAS foi utilizada para determinação de cádmio.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Efeito do pH na complexação do cádmio

Os íons metálicos para serem separados/pré-concentrados através da técnica do ponto nuvem devem formar primeiramente um complexo com hidrofobicidade suficiente para serem extraídos para as micelas, sendo assim a eficiência da extração está diretamente relacionada à formação do complexo, que ocorre em uma determinada faixa de pH, dependendo do metal de interesse e também do agente complexante utilizado. Em trabalhos utilizando extração por ponto nuvem diversos agentes complexantes têm sido utilizados para complexar o cádmio entre eles podem ser citados Ditizona (pH 6) [49, 50], pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC) (pH 4,5) [13, 33], 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN) (pH 8,4) [5], dietilditiofosfato de amônio (DDTP) (pH ácido) [29, 51, 52], 2-(5-bromo-2- piridilazo)-5-(dietilamino)fenol (5-Br-PADAP) (pH 9) [18, 53, 54], 1-fenil-3-metil-4-benzilpirazol-5-ona (PMBP) (pH 9) [47] e 1-(2-piridilazo)2-naftol (PAN) (pH 8,5) [55, 56].

Neste trabalho foi escolhido PAN como agente complexante para cádmio, o pH utilizado para extração foi baseado nos resultados obtidos pelos dois trabalhos citados acima que utilizaram PAN como complexante, em que extrações próximas a 100% foram obtidas quando esta ocorre em uma faixa de pH entre 8 – 10, sendo assim optou-se por trabalhar com pH 10 para extração do cádmio, empregando solução tampão borato para correção do pH.

5.2 Otimização do procedimento ponto nuvem

Assim como o pH é fator importante para formação do complexo metálico para o procedimento de extração por ponto nuvem, é importante também garantir que a concentração do agente complexante seja suficiente para formação quantitativa do complexo e que esta ocorra antes da separação das fases, ou seja antes da adição do surfactante.

Neste trabalho foi escolhido Triton X-114 como agente extrator por apresentar baixa temperatura de ponto nuvem, baixo custo, facilidade manipulação e, além disso, tem sido largamente utilizado em procedimento de extração/ pré-concentração de íons metálicos. O estudo da concentração do surfactante é necessário porque este precisa estar acima da CMC e em quantidade suficiente para extração quantitativa do complexo formado. Os procedimentos de extração por ponto nuvem que geralmente utilizam Triton X-114 como surfactante necessitam de uma etapa de aquecimento para atingirem o ponto nuvem, que é conduzido por banho-maria em uma chapa de aquecimento ou pelo uso de aparelho de microondas doméstico. Porém com o intuito de diminuir uma etapa no procedimento de extração e torná-lo mais simples alguns autores investigaram o efeito de alguns aditivos sobre o comportamento do ponto nuvem que podem ser eletrólitos (NaCl, $MgCl_2$, KNO_3), outros surfactantes, polímeros e ainda alguns compostos orgânicos ou inorgânicos, que podem causar aumento ou diminuição da temperatura de ponto nuvem [25, 57-59]. Coelho e Arruda [29] investigaram o uso de NaCl sobre o ponto nuvem do Triton X-114, e observaram uma diminuição na temperatura de ponto nuvem, possibilitando que o procedimento ocorresse em temperatura ambiente, essa diminuição é promovida pelo efeito “salting-out”, que causa desidratação das micelas, e conseqüente formação de um agregado micelar, acarretando

na separação das fases. Desta forma neste trabalho foi utilizado NaCl como eletrólito para obtenção do ponto nuvem sem a necessidade de aquecimento.

Diante do exposto acima, para avaliar a melhor condição a ser empregada na pré-concentração de Cd(II), um planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} foi aplicado na avaliação dos parâmetros: tempo de complexação (10 ou 20 min), concentração do complexante PAN (0,005 ou 0,1 mmol L^{-1}), concentração do surfactante Triton X-114 (0,02 ou 0,4 %m/v) e concentração eletrólito NaCl (0,5 ou 5,0 %m/v).

Os resultados obtidos apresentados na Tabela 6 foram tratados utilizando análise de variâncias (ANOVA), admitindo-se um nível de confianças de 95%. Os resultados estão apresentados em um gráfico de Pareto conforme Figura 7.

Tabela 6- Resultados obtidos para planejamento fatorial fracionário 2^{4-1}

Experimento	PAN (mmol L^{-1})	Triton X-114 % (m/v)	NaCl % (m/v)	Tempo (min)	Abs. Integrada
1	0,005 (-1)	0,02 (-1)	0,5 (-1)	10 (-1)	0,382
2	0,1 (+1)	0,02 (-1)	0,5 (-1)	20 (+1)	6,188
3	0,005 (-1)	0,4 (+1)	0,5 (-1)	20 (+1)	3,323
4	0,1 (+1)	0,4 (+1)	0,5 (-1)	10 (-1)	3,767
5	0,005 (-1)	0,02 (-1)	5,0 (+1)	20 (+1)	5,484
6	0,1 (+1)	0,02 (-1)	5,0 (+1)	10 (-1)	6,519
7	0,005 (-1)	0,4 (+1)	5,0 (+1)	10 (-1)	4,655
8	0,1 (+1)	0,4 (+1)	5,0 (+1)	20 (+1)	4,524

A partir do gráfico de Pareto foi observado que todas as variáveis na faixa estudada apresentaram efeitos significativos, ou seja, todas exercem influência na eficiência da extração. Entretanto, uma das informações mais importantes que pôde ser

obtida pela análise do gráfico de Pareto foi que as interações entre as variáveis também foram significativas, indicando que uma avaliação individual das variáveis (otimização univariada) não é apropriada para o método uma vez que esse tipo de otimização não fornece informações sobre interações. Para a análise dos resultados não foram consideradas as interações de terceira ordem que se confundem com os efeitos principais das variáveis e para os efeitos de segunda ordem optou-se pelas interações entre as variáveis que apresentaram maiores efeitos principais.

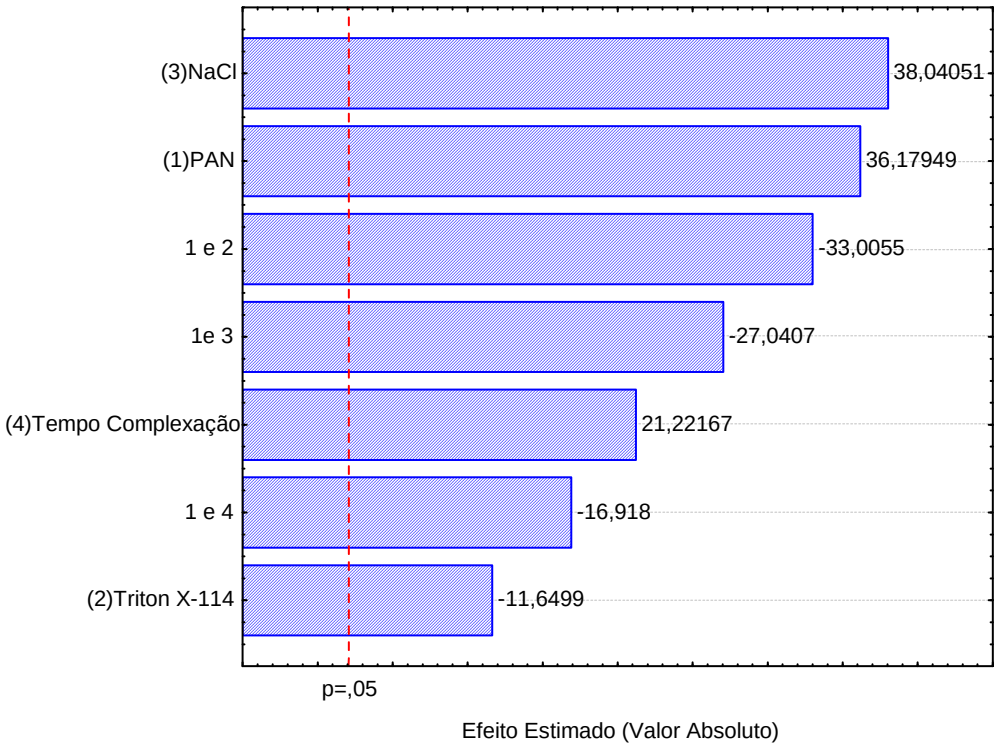


Figura 7 - Gráfico de Pareto gerado no planejamento fatorial fracionário (2^{4-1})

A concentração de NaCl foi a variável que apresentou maior efeito sobre o sistema nas condições estudadas, mostrando a importância da avaliação da concentração de eletrólito para que ocorra a separação das fases uma vez que não foi utilizado aquecimento para atingir a temperatura do ponto nuvem. Assim de acordo com o gráfico

de Pareto, melhores resultados podem ser obtidos quando se utiliza maiores concentrações de NaCl.

O complexante exerce grande influência na pré-concentração porque ele que vai garantir a formação do complexo metálico que irá se unir as micelas do surfactante. É essencial que sua concentração seja suficiente para formação quantitativa do complexo sem que haja grande excesso, uma vez que moléculas do complexante que não se ligarem ao íon metálico podem interagir com as micelas, competindo com as moléculas do complexo formado [59]. Sendo assim, os resultados indicaram que maiores valores de concentrações de complexante devem ser estudadas a fim de melhorar a extração do Cd(II).

Algumas reações de complexação necessitam de um tempo para se completarem e atingirem o equilíbrio, portanto é preciso avaliar o tempo necessário para que a reação de complexação ocorra com o intuito de só realizar a adição do surfactante após completada a reação. De acordo com os resultados, foi observado que o tempo de complexação apresentou efeito positivo significativo indicando que a reação de complexação do Cd(II) com PAN sob as condições estudadas necessita de certo tempo para atingir o equilíbrio. Entretanto levando-se em consideração que tempos maiores de complexação, diminuiriam a freqüência analítica da metodologia, escolheu-se o tempo de 20 minutos para os próximos experimentos.

A variável que apresentou efeito principal menos significativo foi a concentração do surfactante, contudo a interação entre Triton X-114 e PAN apresentou um alto efeito significativo. Para altas concentrações de surfactante há um decréscimo no sinal analítico uma vez que com aumento da quantidade de surfactante ocorre também um aumento no volume da fase rica, fazendo com que o Cd(II) complexado esteja distribuído em um volume maior. Já para baixas concentrações de Triton X-114 a

quantidade de micelas formadas podem ser insuficientes para extração quantitativa do complexo formado o que acarreta em uma baixa eficiência de pré-concentração. Na faixa de concentração de Triton X-114 estudada, melhores resultados foram obtidos quando se utilizou menores concentrações de surfactante, portanto para otimização do sistema menores concentrações de surfactante devem ser empregadas.

Tendo por base os resultados obtidos para o comportamento das variáveis através do planejamento fatorial fracionário, a otimização do método foi realizada através da metodologia de superfície de respostas, utilizando um planejamento composto central, para as variáveis concentrações de PAN, Triton X-114 e NaCl. Os níveis estudados foram escolhidos de acordo os resultados obtidos no planejamento fatorial.

Os resultados encontrados foram tratados utilizando o programa Statistic 6. As superfícies de resposta obtidas são apresentadas nas figuras 8, 9 e10.

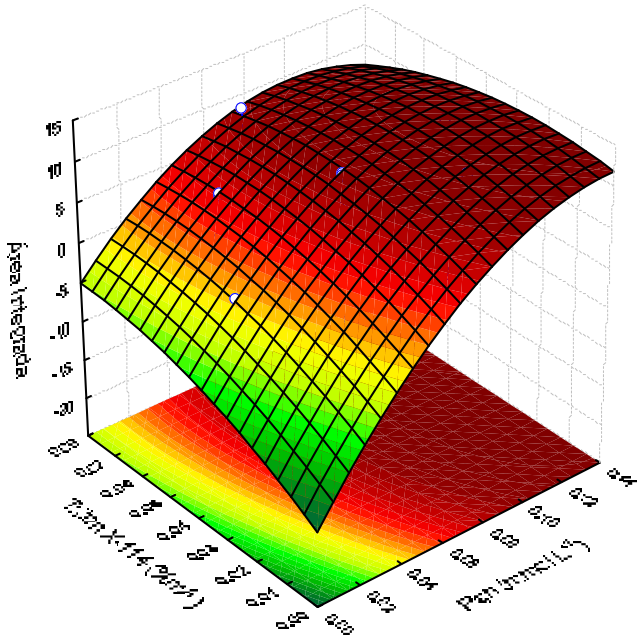


Figura 8 - Superfície de resposta obtida no planejamento composto central, para PAN x Triton X-114 x Área integrada, mantendo NaCl em 2,3 %m/v.

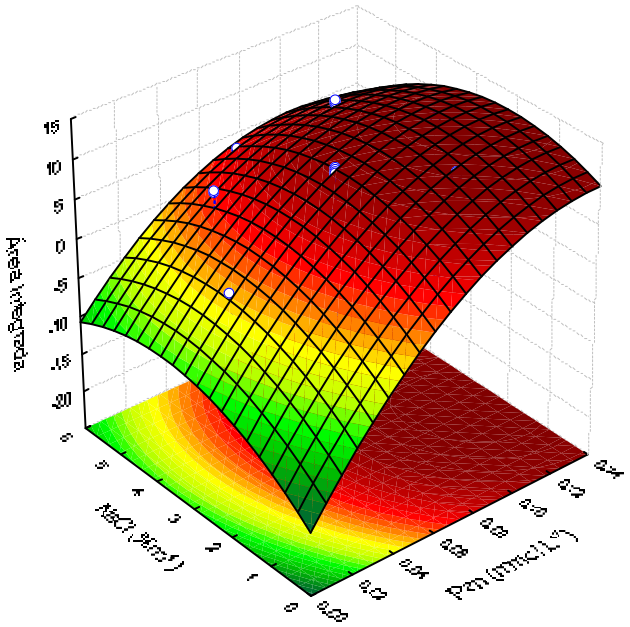


Figura 9 - Superfície de resposta obtida no planejamento composto central, para PAN x NaCl x Área integrada, mantendo Triton X-114 em 0,03 %m/v.

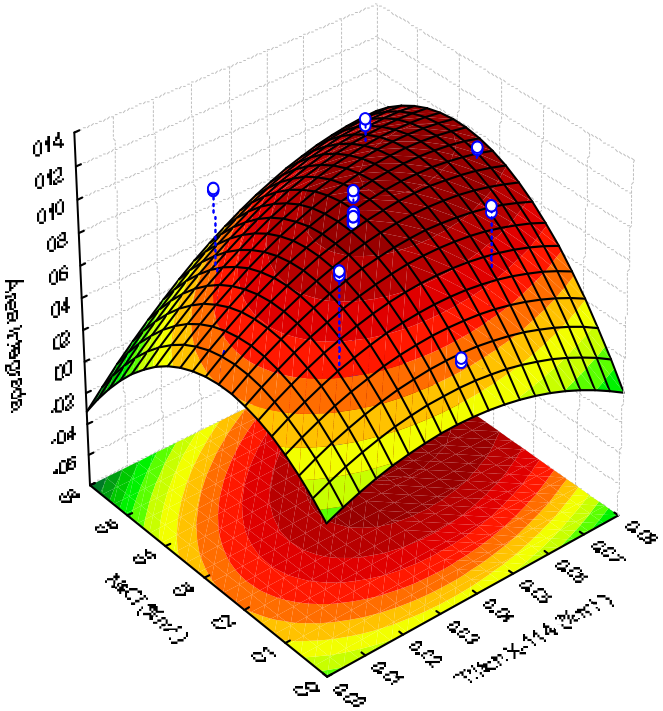


Figura 10 - Superfície de resposta obtida no planejamento composto central, para Triton X-114 x NaCl x Área integrada, mantendo PAN em 0,13 mmol L^{-1}.

As três variáveis estudadas apresentaram efeitos significativos, concordantes com os efeitos encontrados no planejamento fatorial, sendo que a variável concentração do complexante apresentou efeito substancialmente maior quando comparado as outras duas variáveis. O modelo estatístico obtido apresentou um máximo de resposta para todas as variáveis e uma porcentagem explicada de 94%.

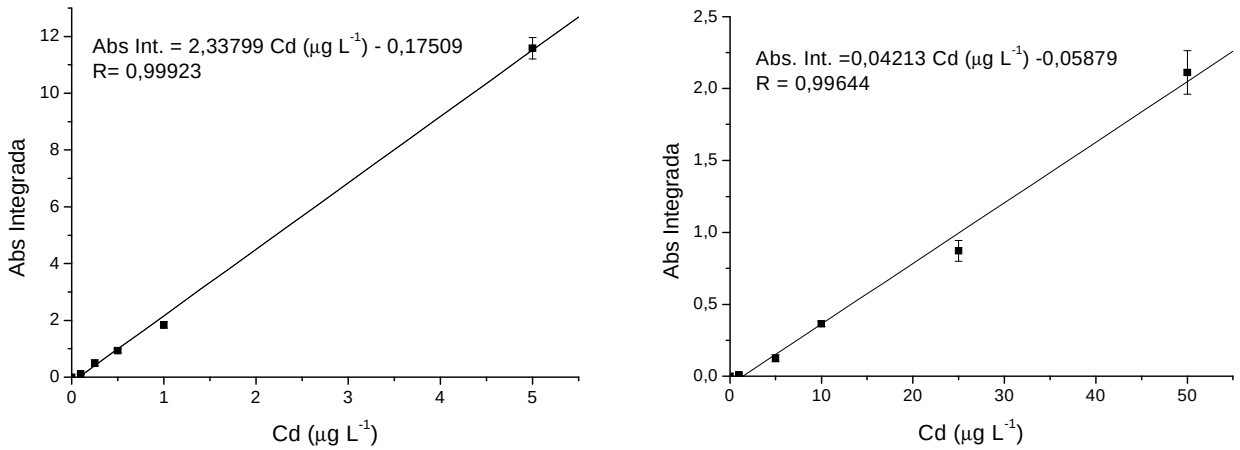
Os valores críticos, que se referem às melhores condições de trabalho para extração do cádmio, estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7- Valores para as condições otimizadas pelo método proposto.

Variáveis	**Valores otimizados**
PAN (mmol L^{-1})	0,13
Triton X-114 % (m/v)	0,03
NaCl % (m/v)	2,3

5.3 Figuras de Mérito

Para avaliação da eficiência da pré-concentração, o fator de pré-concentração foi determinado pela construção de curvas analíticas de calibração, uma pré-concentrada, preparada a partir de soluções de cádmio na faixa de 0,1 – 5,0 μg L^{-1} que passaram pelo procedimento de ponto nuvem utilizando as condições otimizadas e outra sem pré-concentração preparada a partir de soluções de cádmio na faixa de 1 - 50 μg L^{-1}, ambas as curvas foram lidas por TS-FF-AAS. Na figura 11, encontra-se as curvas analíticas obtidas. O valor obtido para o fator de pré-concentração através do quociente do coeficiente angular da curva com e sem pré-concentração, 2,33799 e 0,04213, respectivamente, foi de aproximadamente 55,5.



(a) (b)

Figura 11 – Curvas de calibração de Cd (a) pré-concentrada por ponto nuvem e (b) sem pré-concentração.

Para avaliação do ganho de sensibilidade na utilização da TS-FF-AAS em relação ao uso da FAAS, uma curva de calibração foi construída a partir de soluções de cádmio na faixa de 50 – 1000 μg L^{-1} e lida por FAAS (Figura12).

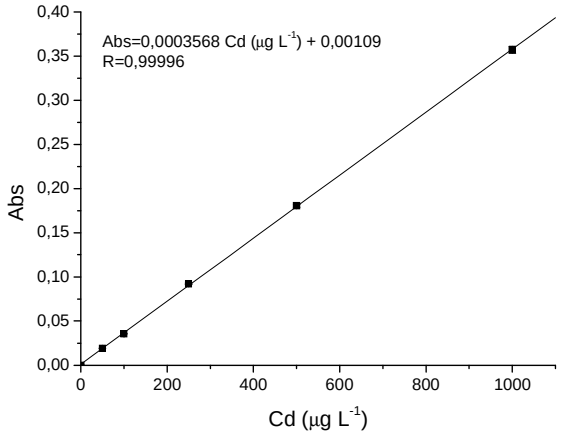


Figura 12 – Curva de calibração de Cd sem pré-concentração lida por FAAS.

O ganho de sensibilidade foi de 118 vezes, obtido pela razão entre o coeficiente angular da curva sem pré-concentração lida por TS-FF-AAS pelo da curva sem pré-

concentração lida por FAAS. Esse ganho de sensibilidade demonstra a viabilidade da combinação da pré-concentração por ponto nuvem com a detecção por TS-FF-AAS, uma vez que a sensibilidade é aumentada consideravelmente, conduzindo a limites de detecção e quantificação muito baixos. A Tabela 8 mostra as figuras de mérito obtidas para o sistema de pré-concentração de íons Cd(II) utilizando a metodologia proposta.

Tabela 8- Figuras de mérito do método otimizado de pré-concentração de Cd(II) por ponto nuvem e detecção por TS-FF-AAS.

Parâmetro	**Valor Obtido**
Equação da curva	Abs. Int. =2,33799 Cd(μg L^{-1}) - 0,17509
Coeficiente de Correlação Linear	0,99923
Faixa de Trabalho (μg L^{-1})	0,1 – 5,0
Limite de Detecção (μg L^{-1})	0,0178
Limite de Quantificação (μg L^{-1})	0,0595
Fator de pré-concentração	55,5
DPR(%) de 0,5 μg L^{-1} (n = 8)	4,1

5.4 Exatidão e Aplicação do método

O método desenvolvido foi aplicado para determinação de cádmio em amostras de refrigerantes, elas foram tratadas conforme seção 4.6. Para avaliação da exatidão do método foram realizados testes de adição e recuperação para todas as amostras analisadas. Os resultados estão apresentados na tabela 9.

Tabela 9- Resultados dos testes de exatidão da metodologia de determinação de Cd(II) empregando amostras fortificadas.

Amostras	**Cd adicionado (μg L^{-1})**	**Cd encontrado (μg L^{-1})**	**Recuperação (%)**
	-	0,036 ± 0,004	-
Amostra 1	0,25	0,286 ± 0,025	100
	1,0	1,077 ± 0,040	104
	-	0,066 ± 0,007	-
Amostra 2	0,25	0,294 ± 0,036	91
	1,0	1,044 ± 0,057	98
	-	0,065 ±0,005	
Amostra 3	0,25	0,321 ± 0,017	102
	1,0	1,04 ± 0,033	97
	-	0,024 ±0,010	
Amostra 4	0,25	0,244 ± 0,056	88
	1,0	1,034 ± 0,028	101
	-	0,033 ±0,003	
Amostra 5	0,25	0,260 ± 0,067	91
	1,0	1,068 ± 0,098	103

O nível máximo permitido de Cd(II) em refrigerantes é de 0,2 mg L^{-1} [60]. Nas amostras analisadas a concentração de Cd(II) variou de 0,024 – 0,066 μg L^{-1} , portanto nenhuma das amostras analisadas apresentaram teores cádmio acima do limite máximo recomendado.

Somente duas amostras (2 e 3) apresentaram concentrações acima do limite de quantificação, enquanto que as demais amostras apresentaram valores de concentração entre os limites de detecção e quantificação, essa não é uma região recomendada para

obtenção de dados quantitativos, entretanto optou-se por manter esses resultados nas tabelas, uma vez que o método apresentou baixo desvio padrão das medidas e, além disso, foram obtidos adequados valores de recuperação.

Os valores de recuperação obtidos variaram na faixa de 88 – 104 % o que sinaliza que a metodologia não apresenta problemas relacionados ao efeito de matriz, já que os valores ficaram da faixa aceitável de 80 a 120%.

A metodologia desenvolvida apresentou limite de quantificação bem abaixo do valor máximo tolerado, comprovando a aplicabilidade da mesma para determinação de cádmio em amostras de refrigerantes, bem como a sua possível aplicação em outras matrizes.

6. Conclusões

A metodologia desenvolvida utilizando pré-concentração por ponto nuvem e espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico para detecção se apresentou como uma alternativa interessante para determinação de cádmio em baixas concentrações nas amostras de refrigerantes, em relação às técnicas comumente utilizadas. O método é simples, de baixo custo, não necessita de digestão das amostras, minimiza a utilização de solventes orgânicos, reduz o consumo de reagentes e amostras.

Além disso, o método apresentou um aumento significativo na sensibilidade, quando comparado a espectrometria de absorção atômica com chama. A utilização da TS-FF-AAS promoveu um aumento de 118 vezes na sensibilidade em relação à FAAS convencional, já a etapa de pré-concentração promoveu um aumento de 55, 5 vezes em relação à TS-FF-AAS. Esse aumento na sensibilidade pode ser comprovado pelo limite de detecção e quantificação obtido que foram de 0,0178 e 0,0595 $\mu g\ L^{-1}$, respectivamente. A precisão do método de 4,1 %, calculada a partir de 8 leituras de solução pré-concentrada de cádmio, se apresentou adequada uma vez que o método é constituído por várias etapas. Os testes de adição e recuperação apresentaram bons resultados, comprovando a exatidão do método e sua aplicabilidade para determinação de cádmio em refrigerantes

A utilização de planejamentos fatoriais e metodologias de superfície de respostas se mostraram como uma ferramenta importante para otimização do método, uma vez que forneceu informações essenciais sobre os efeitos que cada variável exerce na metodologia de pré-concentração por ponto nuvem, bem como suas interações. Além

disso, foi possível atingir a condição ótima de experimentação com reduzido número de experimentos, que diminuiu o tempo, custos e geração de resíduos.

7. Referências Bibliográficas

1. ABIR – Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas não-alcoólicas. http://www.abir.org.br/. Acesso em dezembro de 2009.

2. ABIPET – Associação Brasileira da Indústria do PET. http://www.abipet.org.br./. Acesso em dezembro 2009.

3. MARTINIS, E. M.; OLSINA, R. A.; ALTAMIRANO, J. C.; WUILLOUD, R.G. *"On-line ionic liquid-based preconcentration system coupled to flame atomic absorption spectrometry for trace cadmium determination in plastic food packaging materials"* Talanta, 78, 857–862, **2009**.

4. RITTER, A.; MEYER, V. R. *"The Horwitz curve is too optimistic for analyses in plastics"* Talanta, 24, 988-993, **2005**.

5. SILVA, E. L.; ROLDAN, P. S. *"Simultaneous flow injection preconcentration of lead and cadmium using cloud point extraction and determination by atomic absorption spectrometry"* Journal of Hazardous Materials 161 (1), 142-147, **2009**.

6. FERREIRA, S. L.C.; ANDRADE, J. B.; KORN, M. DAS G. A.; PEREIRA, M. DE G.; LEMOS, V. A.; SANTOS, W. N. L. DOS; RODRIGUES, F. DE M., SOUZA, A. S.; FERREIRA, H. S.; SILVA, E. G. P. DA; *"Review of procedures involving separation and preconcentration for the determination of cadmium using spectrometric techniques"* Journal of Hazardous Materials 145, 358–367, **2007**.

7. AFKHAMI, A.; MADRAKIAN, T.; SIAMPOUR, H. *"Flame atomic absorption spectrometric determination of trace quantities of cadmium in water samples after cloud point extraction in Triton X-114 without added chelating agents"* Journal of Hazardous Materials B138, 269–272, **2006**.

8. DAVIS, A. C.; WU, P.; ZHANG, X.; HOU, X.; JONES, B. T. *"Determination of Cadmium in Biological Samples"* Applied Spectroscopy Reviews, 41, 35–75, **2006**.

9. TARLEY, C. R. T.; ARRUDA, M. A. Z. *"A Sensitive method for cadmium determination using an On-line polyurethane foam preconcentration system and thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry"* Analytical Science, 20, 961-966, **2004**.

10. PEREIRA, M. DE G.; ARRUDA, M. A. Z. *"Trends in Preconcentration Procedures for Metal Determination Using Atomic Spectrometry Techniques"* Microchimical Acta, 141, 115–131, **2003**.

11. NASCENTES, C. C.; ARRUDA, M. A. Z.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. *"Direct determination of Cu and Zn in fruit juices and bovine Milk by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry"* Talanta 64, 912 – 917, **2004**.

12. ROSINI, F.; NASCENTES, C. C.; NEIRA, J. Y.; NÓBREGA, J. A. *"Evaluation of selenium behavior in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry*" Talanta, 73, 845–849, **2007**.

13. WU, P.; ZHANG, Y.; LV, Y.; HOU, X. *"Cloud point extraction–thermospray flame quartz furnace atomic absorption spectrometry for determination of ultratrace cadmium in water and urine"* Spectrochimica Acta Part B, 61, 1310–1314, **2006**.

14. GÁSPÁR, A.; BERNDT, H. *"Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry TS-FF-AAS a simple method for trace element determination with microsamples in the 1 $\mu g\ L^{-1}$ concentration range"* Spectrochimica Acta Part B, 55, 587-597, **2000**.

15. DAVIES, J.; BERNDT, H. *"Improvements in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry"* Analytica Chimica Acta, 479, 215–223, **2002**.

16. PEREIRA, M.G.; PEREIRA-FILHO, E.R.; BERNDT, H.; ARRUDA M.A.Z. *"Determination of cadmium and lead at low levels by using preconcentration at fullerene coupled to thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry"* Spectrochimica Acta Part B 59, 515–521, **2004**.

17. NASCENTES, C. C.; KAMOGAWA, M. Y.; FERNANDES, K. G.; ARRUDA, M. A. Z.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. *"Direct determination of Cu, Mn, Pb, and Zn in beer by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry"* Spectrochimica Acta Part B, 60, 749– 753, **2005**.

18. ANDRADE, F. P.; NASCENTES, C.C.; COSTA, L. M. *"Cadmium and Lead Cloud Point Preconcentration and Determination in Tobacco Samples by Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry"* J. Braz. Chem. Soc., 00, 1-7, **2009**.

19. TARLEY, C. R. T.; FIGUEIREDO, E. DA C.; MATOS, G. D. *"Thermospray Flame Furnace-AAS Determination of Copper after On-line Sorbent Preconcentration Using a System Optimized by Experimental Designs"* Analytical Sciences, 21, 1337-1342, **2005**.

20. LEMOS, V. A.; BALIZA, P. X.; CARVALHO, A. L. DE; OLIVEIRA, R. V.; TEIXEIRA, L. S. G.; BEZERRA, M. A. *"Development of a new sequential injection in-line cloud point extraction system for flame atomic absorption spectrometric determination of manganese in food samples"* Talanta, 77, 388-393, **2008**.

21. ARVAND, M.; POURHABIB, A.; AFSHARI, A.; BAGHERINIA, M.; GHODSI, N.; SHEMSHADI, R. *"Determination of Cadmium and Zinc in Water Samples by Flame Atomic Absorption Spectrometry after Cloud-Point Extraction"* Journal of Analytical Chemistry, 63, 954-959, **2008**.

22. SUSSULINI, A.; ARRUDA, M. A. Z. *"Determinação de cromo (VI) por espectrometria de absorção atômica com chama após a extração e pré-concentração no ponto nuvem"* Eclética, 31, 73-80, **2006**.
23. LEMOS, V. A.; FRANÇA, R. S. DA; MOREIRA, B. O. *"Cloud point extraction for Co and Ni determination in water samples by flame atomic absorption spectrometry"* Separation and Purification Technology 54, 349–354, **2007**.

24. FANG, Q.; DU, M.; HUIE, C. H. *"On-Line Incorporation of Cloud Point Extraction to Flow Injection Analysis"* Analytical Chemistry, 73, 3502-3505, **2001**.

25. BEZERRA, M. DE A.; ARRUDA, M. A. Z.; FERREIRA, S. L. C. *"Cloud Point Extraction as a Procedure of Separation and Pre-Concentration for Metal Determination Using Spectroanalytical Techniques: A Review"* Applied Spectroscopy Reviews, 40, 269–299, **2005**.

26. ARANDA, P. R.; GIL, R. A.; MOYANO, S.; VITO, I. E. DE; MARTINEZ, L. D. *"Cloud point extraction of mercury with PONPE 7.5 prior to its determination in biological samples by ETAAS"* Talanta, 75, 307–311, **2008**.

27. MANIASSO, N. *"Ambientes micelares em química analítica"* Química Nova, 24, 87-93, **2001**.

28. PALEOLOGOS, E. K.; GIOKAS, D. L.; KARAYANNIS, M. I. *"Micelle-mediated separation and cloud-point extraction"* Trends in Analytical Chemistry, 24, 426-436, **2005**.

29. COELHO, L. M.; ARRUDA, M. A. Z. *"Preconcentration procedure using cloud point extraction in the presence of electrolyte for cadmium determination by flame atomic absorption spectrometry"* Spectrochimica Acta Part B, 60, 743– 748, **2005**.

30. OJEDA, C. B; ROJAS, F. S. *"Separation and preconcentration by a cloud point extraction procedure for determination of metals: an overview"* Analytical Bioanalytical Chemitry, 394, 759–782, **2009**.

31. WATANABE, H.; TANAKA, H. *"Nonionic surfactant as a new solvent for liquid-liquid – extraction of zinc(II) with 1-(2-pyridylazo)-2-naftol"* Talanta, 25, 585-589, **1978**.

32. MATOS, G. D.; REIS, E. B.DOS; COSTA, A. C. S.; FERREIRA, S. L. C. *"Speciation of chromium in river water samples contaminated with leather effluents by flame atomic absorption spectrometry after separation/preconcentration by cloud point extraction"* Microchemical Journal, 92,135–139, **2009**.

33. DONATI, G. L.; PHARR, K. E.; CALLOWAY JR., C. P.; NÓBREGA, J. A.; JONES, B.T.; *"Determination of Cd in urine by cloud point extraction–tungsten coil atomic absorption spectrometry"* Talanta, 76, 252-1255, **2008**.

34. GHAEDI, M.; SHOKROLLAHI, A.; NIKNAMB, K.; EBRAHIM, N.; NAJIBI, A.; SOYLAKC, M. *"Cloud point extraction and flame atomic absorption spectrometric determination of cadmium(II), lead(II), palladium(II) and silver(I) in environmental samples"* Journal of Hazardous Materials, 168, 1022–1027, **2009**.

35. SILVA, E. L.; ROLDAN, P. DOS S.; GINÉA, M. F. *"Simultaneous preconcentration of copper, zinc, cadmium, and nickel in water samples by cloud point extraction using 4-(2-pyridylazo)-resorcinol and their determination by inductively coupled plasma optic emission spectrometry"* Journal of Hazardous Materials 171, 1133–1138, **2009**.

36. LIANG, P.; YANG, J. *"Cloud point extraction preconcentration and spectrophotometric determination of copper in food and water samples using amino acid as the complexing agent"* Journal of Food Composition and Analysis, doi:10.1016/j.jfca.2009.01.015, **2009**.

37. BORGES, D. L. G.; CURTIS, A. J.; WELZ, B.; HEITMANN,U. *"Fundamentos de espectrometria de absorção atômica com fonte contínua"* Analytica, 18, 58-66, **2005**.

38. HARRIS, D. C., Análise Química Quantitativa, 6ª ed. Trad. BONAPACE, J. A. P.; BARCIA, O. E.; Rio de Janeiro, LTC Livros Técnicos e Científicos, **2005**.

39. DONATI, G. L.; NASCENTES, C. C.; NOGUEIRA, A. R. A.; ARRUDA, M. A. Z.; NÓBREGA, J. A. *"Acid extraction and cloud point preconcentration as sample preparation strategies for cobalt determination in biological materials by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry"* Microchemical Journal, 82, 189–195, **2006**.

40. SCHIAVO, D.; NEIRA, J. Y.; NÓBREGA, J. A. *"Direct determination of Cd, Cu and Pb in wines and grape juices by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry"* Talanta, 76, 1113–1118, **2008**.

41. PEREIRA-FILHO, E. R.; BERNDT, H.; ARRUDA, M. A. Z. *"Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction"* Journal of Analytical Atomic Spectrometry,17, 1308–1315, **2002**.

42. BRANCALION, M. L.; ARRUDA, M. A. Z. *"Evaluation of Medicinal Plant Decomposition Efficiency Using Microwave Ovens and Mini-Vials for Cd Determination by TS-FF-AAS"* Microchimica Acta, 150, 283–290, **2005**.

43. TARLEY, C. R. T.; ARRUDA, M. A. Z. *"Online coupling of a flow injection system to TS-FF-AAS for preconcentration and determination of lead in water and vegetables"* Analytical Letters, 38, 1427-1443, **2005**.

44. CARDOSO, L. M. N.; CHASIN, A. A. M. *"Ecotoxicologia do cádmio e seus Compostos"* Salvador, Centro de Recursos Ambientais (CRA), **2001**.

45. ROMAN, T. R. N.; LIMA, E. G. DE; AZOUBE, R.; BATIGÁLIA, F. *"Toxicidade do cádmio no homem"* HB Científica, 9, **2002**.

46. MCLAUGHLIN, M. J.; PARKER, D. R.; CLARKE, J. M. *"Metals and micronutrients – food safety issues"* Field Crops Research, 60, 143-163, **1999**.

47. LIANG, P.; LI, J.; YANG, X. *"Cloud Point Extraction Preconcentration of Trace Cadmium as 1-Phenyl-3-methyl-4-benzoyl-5-pyrazolone Complex and Determination by Flame Atomic Absorption Spectrometry"* Microchimica Acta, 152, 47–51, **2005**.

48. VATHER, M.; AKESSON, A.; CECATELLI, C.; BERGLUND, S. *"Gender difference in the disposition and toxicity of metals"* Environmental Research, 104, 85-95, **2007**.

49. WEN, X.; WU, P.; CHEN, L.; HOU, X.; *"Determination of cadmium in rice and water by tungsten coil electrothermal vaporization-atomic fluorescence spectrometry and tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry after cloud point extraction"* Analytica Chimica Acta 650, 33–38, **2009**.

50. MANZOORI, J. L.; KARIM-NEZHAD, G. *"Development of a cloud point extraction and preconcentration method for Cd and Ni prior to flame atomic absorption spectrometric determination"* Analytica Chimica Acta, 521, 173–177, **2004**.

51. MANZOORI, J. L.; BAVILI-TABRIZI, A. *"Cloud point preconcentration and flame atomic absorption spectrometric determination of Cd and Pb in human hair"* Analytica Chimica Acta, 470, 215–221, **2002**.

52. MARANHÃO, T. DE A.; BORGES, D. L. G.; VEIGA, M. A. M. S. DA; CURTIUS, A. J. *"Cloud point extraction for the determination of cadmium and lead in biological samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry"* Spectrochimica Acta Part B, 60, 667– 672, **2005**.

53. ARANDA, P. R.; GIL, R. A.; MOYANO, S.; VITO, I. DE; MARTINEZ, L. D. *"Cloud point extraction for ultra-trace Cd determination in microwave-digested biological samples by ETAAS"* Talanta, 77, 663-666, **2008**.

54. XIAO, S.; CHEN, J.; WU, X.; MIAO, Y. *"Determination of Cadmium in Water Samples by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry after Cloud Point Extraction"* Journal of Analytical Chemistry, 62, 42–45, **2007**.

55. ZHU, X.; ZHU, X.; WANG, B. *"Determination of Trace Cadmium in Water Samples by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry after Cloud Point Extraction"* Microchimica Acta, 154, 95–100, **2006**.

56. PINTO, G. P.; PAVÓN, J. L. P.; CORDERO, B. M.; BEATO, E. R.; SÁNCHEZ, S. G. *"Cloud Point Preconcentration and Flame Atomic Absorption Spectrometry: Application to the Determination of Cadmium"* Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 11, 37-41, **1996**.

57. GU, T.R.; GALERA-GOMEZ, P.A. *"The effect of different alcohols and other polar organic additives on the cloud point of Triton X-100 in water"* Coll. and Surf. A., 147, 365–370, **1999**.

58. GU, T.R.; GALERA-GOMES, P.A. *"Clouding of Triton X-114: The effect of added electrolytes on the cloud point of Triton X-114 in presence of ionic surfactants"* Colloids and Surfaces A., 104, 307–312, **1995**.

59. NASCENTES, C.C.; ARRUDA, M. A. Z. *"Cloud point formation based on mixed micelles in the presence of eletrolytes for cobalt extraction and preconcentration"* Talanta, 61, 759–768, **2003**.

60. BRASIL Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. Disponível em: http://www.anvisa.org.br/. Acesso em fevereiro de 2010.